

Temat pracy doktorskiej: „Charakterystyka mitochondrialnych zmian powstałych w odpowiedzi na zaburzoną biogenezę mitorybosomów”.

STRESZCZENIE

Dotychczasowe badania pokazują, że rybosomy nie są prostymi, nieselektywnymi maszynami przeprowadzającymi proces syntezy białek, ale stanowią ważny element jego regulacji. Potwierdzają to także wyniki wskazujące, że wyciszenie genu kodującego mitorybosomalne białko S10 u *Arabidopsis* (mutant *rps10*) prowadzi do zmian w procesie translacji mitochondrialnej.

W celu zrozumienia molekularnych podstaw zmienionej translacji obserwowanej u mutantu *rps10*, spowodowanej niedoborem białka S10, postanowiono wykorzystać innowacyjną metodę jaką jest profilowanie rybosomów. Umożliwia ono monitorowanie translacji „*in vivo*” poprzez sekwencjonowanie fragmentów mRNA chronionych przez rybosomy (tzw. „odcisków rybosomów”). Przeprowadzone badania wykazały, że w mitochondriach typu dzikiego translatowane są głównie transkrypty kodujące białka systemu fosforylacji oksydacyjnej (OXPHOS). Jednakże, w przypadku mutantu, cecha ta została utracona. Mitorybosomy *rps10* wykazują nieznacznie obniżoną wydajność translacji większości białek OXPHOS, przy jednoczesnym zwiększeniu wydajności syntezy pozostałych białek, w tym białek rybosomalnych, MatR i TatC.

Uzyskane dane wskazują także, że w porównaniu do typu dzikiego mitorybosomy pozbawione białka S10 ochraniają krótsze fragmenty mRNA i wykazują obniżoną okresowość trzech nukleotydów, cechę charakterystyczną dla procesu translacji. Interesujący jest fakt, że zmniejszenie okresowości jest szczególnie drastyczne w przypadku genów zawierających introny. Ponadto wykazano, że wycinanie intronów u mutantu jest zdecydowanie mniej wydajne, co wskazuje na nieoczekiwany związek pomiędzy niedoborem białka S10, a splicingiem mitochondrialnym. Analiza odczytów przyrównanych poza sekwencjami kodującymi ujawniła obecność dużych ilości małych RNA, zwłaszcza u mutantu *rps10*, które najprawdopodobniej pochodzą z ochrony RNA przed nukleolityczną degradacją przez białka wiążące RNA. Niektóre z nich (głównie z 3' UTR) przypominają tzw. organellarne sRNA (cosRNA).

W trakcie badań wykazano także, że u mutantu *rps10* dochodzi do zaburzenia dojrzewania prekursora 18S-5S rRNA. Oprócz dojrzałych form 18S i 5S rRNA u mutantu zidentyfikowano obecność poliadenylowanych prekursorów zawierających: 18S rRNA, ITS (sekwencję międzygenową) i 5S rRNA oraz transkryptów złożonych z: 18S rRNA i sekwencji

ITS o różnej długości. Niektóre z tych ostatnich form były również poliadenylowane. Chociaż rola jaką w tym procesie odgrywa białko S10 nie jest obecnie jasna, hipotetycznie może ona wynikać z pozarybosomalnej funkcji tego białka albo/i zaburzenia hierarchicznego dojrzewania rRNA, spowodowanego zmianami jakie zaszły w mitorybosomach w wyniku braku białka S10. Należy podkreślić, że niedobór białka mitorybosomalnego nie zawsze prowadzi do wyraźnych zaburzeń w biogenezie mitorybosomów oraz zmian w mitochondrialnej translacji. Wniosek ten potwierdzają wyniki badań własnych dotyczące innego mutantu *Arabidopsis*, *mrp111*, charakteryzującego się obniżonym poziomem transkryptów białka mitorybosomalnego dużej podjednostki L11.

Dodatkowo, w pracy wykazano, że u mutantu *rps10* dochodzi do zaburzenia prawidłowego funkcjonowania alternatywnej i cytochromowej drogi oddychania mitochondrialnego.